ChinaXiv合作期刊

第 37 卷第 20 期 2017 年 10 月
生　态　学　报
ACTA ECOLOGICA SINICA
Vol.37,No.20 Oct.,2017

DOI: 10.5846/stxb201607261528
刘国红,刘波,王阶平,朱育菁,车建美,陈倩倩,陈峥.养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间分布多样性.生态学报,2017,37(20):6914-6932.
Liu G H, Liu B, Wang J P, Zhu Y J, Che J M, Chen Q Q, Chen Z.Spatial distribution pattern and community diversity of the *Bacillus*-like species in a fermentation bed system for pig rearing.Acta Ecologica Sinica,2017,37(20):6914-6932.

养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间分布多样性

刘国红,刘　波*,王阶平,朱育菁,车建美,陈倩倩,陈　峥
福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州　350003

摘要: 了解微生物发酵床大栏养猪垫料中的芽胞杆菌多样性和空间分布规律,为微生物发酵床管理、芽胞杆菌新资源挖掘及菌剂开发奠定基础。将发酵床划分为 32 个方格(4 行 × 8 列),采用五点取样法获得每个方格的样品。采用可培养法从 32 份样品中分离芽胞杆菌菌株,利用 16S rRNA 基因序列初步鉴定所分离获得的芽胞杆菌种类。利用聚集度指标和回归分析法,分析芽胞杆菌的样方空间分布型。通过 Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 优势度指数、Hill 指数及丰富度指数分析,揭示微生物发酵床中芽胞杆菌的空间分布多样性。从 32 份样品中共获得芽胞杆菌 452 株,16S rRNA 基因鉴定结果表明它们分别隶属于芽胞杆菌纲的 2 个科、8 个属、48 个种。其中,种类最多的为芽胞杆菌属(*Bacillus*),30 种;赖氨酸芽胞杆菌属(*Lysinibacillus*),6 种;类芽胞杆菌属(*Paenibacillus*),5 种;短芽胞杆菌属(*Brevibacillus*),3 种;鸟氨酸芽胞杆菌属(*Ornithinibacillus*)、大洋芽胞杆菌属(*Oceanibacillus*)、少盐芽胞杆菌属(*Paucisalibacillus*)和纤细芽胞杆菌属(*Gracilibacillus*)各 1 个种。芽胞杆菌种类在发酵床空间分布差异很大,根据其空间出现频次,可分为广分布种类,如地衣芽胞杆菌(*Bacillus licheniformis*);寡分布种类,如根际芽胞杆菌(*B. rhizosphaerae*);少分布种类,如弯曲芽胞杆菌(*B. flexus*)。依据其数量,可分为高含量组优势种群,如地衣芽胞杆菌(*B. licheniformis*);中含量组常见种群,耐盐赖氨酸芽胞杆菌(*Lysinibacillus halotolerans*);寡含量组寡见种群,如根际芽胞杆菌(*B. rhizosphaerae*);低含量组偶见种群,如土地芽胞杆菌(*B. humi*)。空间分布型聚集度和回归分析测定表明,芽胞杆菌在微生物发酵床的分布类型为聚集分布。微生物发酵床垫料中芽胞杆菌种类总含量高达 4.41×10^8 个/g,其种类含量范围为 0.01—94.1×10^6 个/g(均值为 8.96×10^6 个/g),丰富度指数(D)、优势度指数(λ)、Shannon-Wiener 指数(H')和均匀度指数(J')分别为 0.4928、0.2634、1.3589和 0.9803,其中香农指数最大的单个芽胞杆菌种类为地衣芽胞杆菌(*B. licheniformis*)。根据芽胞杆菌种类多样性指数聚类分析,当欧式距离 $\lambda=17$ 时,可分为高丰富度高含量和低丰富度低含量类型。微生物发酵床的芽胞杆菌种类丰富、数量高,是一个天然的菌剂"发酵罐",有望直接作为微生物菌剂,应用于土壤改良、作物病害防控、污染治理等领域。

关键词: 芽胞杆菌;微生物发酵床;16S rRNA 基因;空间分布;多样性

Spatial distribution pattern and community diversity of the *Bacillus*-like species in a fermentation bed system for pig rearing

LIU Guohong, LIU Bo*, WANG Jieping, ZHU Yujing, CHE Jianmei, CHEN Qianqian, CHEN Zheng
Agricultural Bio-Resources Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, *China*

Abstract: To provide a foundation for the management of microbial fermentation beds, new resource mining of *Bacillus*-like species, and development of microbial agents, we investigated the spatial distribution pattern and community diversity of *Bacillus*-like species in the litters of a pig-on-litter system. The microbial fermentation bed was divided into 32 square areas of 4 rows × 8 columns. A sample from each area was obtained using a five-point sampling mode. *Bacillus*-like bacteria were isolated from the 32 samples using a culture method and preliminarily identified based on 16S rRNA gene sequences. The

基金项目: 国家自然科学基金(31370059);福建省自然科学基金(2016J01129);福建省公益项目(2015R1018-7);农业部 948 项目(2016-X21)
收稿日期: 2016-07-26;　　**网络出版日期:** 2017-06-01

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: fzliubo@163.com

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

spatial distribution pattern of the *Bacillus*-like bacteria was analyzed using a concentration index and regression analysis. Moreover, the Shannon-Wiener diversity index, Simpson dominance index, Hill index, and richness were separately calculated to reveal the community structure and diversity of the *Bacillus*-like bacteria in the microbial fermentation bed. A total of 452 *Bacillus*-like isolates were obtained from the 32 litter samples, and identified as 48 species belonging to eight genera and two Families (Bacillaceae and Paenibacillaceae) within the Bacilli by 16S rRNA gene sequences. The species numbers for the genera were as follows: 30 for *Bacillus*, six for *Lysinibacillus*, five for *Paenibacillus*, three for *Brevibacillus*, and one for each of *Ornithinibacillus*, *Oceanobacillus*, *Paucisalibacillus*, and *Gracilibacillus*. There was a large difference in the distribution of *Bacillus*-like species in the fermentation bed. On the basis of their occurrence frequency, the *Bacillus*-like species could be discriminated as the widespread species, including *Bacillus licheniformis*; sparsely distributed species, including *B. rhizosphaerae*; and rare species, including *B. flexus*. According to the abundance of each species, the *Bacillus*-like species could be classified into the high-content dominant populations, including *B. licheniformis*; medium-content common populations, including *Lysinibacillus halotolerans*; oligocontent oligo populations, including *B. rhizosphaerae*, and low-content occasional populations, including *B. humi*. The concentration class and regression analysis results indicated that the spatial distribution pattern of the *Bacillus*-like species in the microbial fermentation bed was an aggregated distribution. In the litters, the content range, total content, richness, Simpson index, Shannon-Wiener index, and Pielou's evenness index of the *Bacillus*-like species were 0.01—94.1 × 10^6 cfu/g, 4.41 × 10^8 cfu/g, 0.4928, 0.2634, 1.3589, and 0.9803, respectively. Moreover, *B. licheniformis* appeared to have the highest Shannon-Wiener index value. On the basis of the diversity index cluster analysis, all the *Bacillus*-like species could be divided into a high richness high content group and a low richness low content group. The *Bacillus*-like bacteria can actively inhabit microbial fermentation beds and have rich species and abundant contents. Thus, the microbial fermentation bed can be considered as a natural bacterial "fermentation tank," which is expected to be directly used as a microbial inoculum and applied in the fields for purposes including soil improvement, crop disease prevention and control, and pollution management.

Key Words: *Bacillus*-like species; piggery bedding; 16S rRNA gene; spatial distribution; diversity

生猪养殖过程造成严重的环境污染,以福建省为例,2011 年生猪存栏 1297.80 万头,按每天每头猪排放粪尿加冲洗猪栏污水约 25 kg 计算,全年排污量高达 11842.425 万 t,成为农业面源污染的主要污染源之一[1]。近年来,微生物发酵床应用于养猪,采用垫料(椰糠、谷壳、菌糠、锯末等配合)铺垫猪舍,接入微生物菌剂,猪粪尿直排其上,通过微生物原位发酵,分解猪粪、消除臭味,从而实现生猪养殖的零排放,解决养猪污染的问题[2-4]。

微生物发酵床养猪思路最早可以追溯到中国 360 年前张履祥辑补《沈氏农书》记载的猪圈垫草饲养方法[5]。现代微生物发酵床养殖研究最早见于日本,1970 年日本建立了第一个以木屑为垫料的发酵床[6],中国香港的 Tiquia 等研究了发教床垫料翻堆的作用[7],德国的 Kaufmann 等研究了育肥猪发酵床猪粪营养平衡[8]。加拿大 Biotech 公司于 1985 年推出一个以秸秆为垫料的发酵床系统[9],克罗地亚的 Margeta 等分析了本国养猪发酵床优缺点及其发展前景[10],波兰的 Knecht 等研究发现发酵床猪舍猪寄生虫病流行低于漏缝地板猪舍[11],刘波等设计了 2100m^2 的大栏发酵床智能化养猪系统的猪舍[12]。

关于发酵床微生物特性研究报道较少,刘波等研究了发酵床微生物群落脂肪酸生物标记多样性[13]。郑雪芳等分析了发酵床垫料微生物亚群落的分化[14]。张学峰等揭示了不同深度发酵床垫料土著稳定微生物菌群[15]。王迪分离鉴定了发酵床的芽胞杆菌(*Bacillus*)[16]。林莉莉等研究了发酵床猪舍环境与猪体表微生物分布状况[17]。张庆宁从微生物发酵床筛选出了分解猪粪的芽胞杆菌[18]。刘让等筛选芽胞杆菌作为发酵床发酵菌种[19]。

微生物发酵床对猪病具有一定的生防作用,郑雪芳等研究发现微生物发酵床养猪基质垫层形成的稳定微

chinaXiv:201711.00057v1
http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

生物群落结构能抑制大肠杆菌特别是致病性大肠杆菌的生长[20]。毕小艳研究了猪用发酵床垫料中微生物动态变化及对猪免疫力的影响[21]。以往的研究表明,芽胞杆菌作为发酵床的优势菌群,具有生长优势强,耐发酵高热,能够产生多种与猪粪降解相关的酶类[18],具有降解猪粪[16]、抑制病原[22]、清除臭味[23]等的作用;随着在发酵床饲养时间的延长,从对应猪分离的大肠杆菌的抗药性逐渐降低[18]。

研究发酵床芽胞杆菌特性,了解发酵床芽胞杆菌空间分布多样性,对于研究发酵床微生物群落功能、猪粪降解机理、猪病生防机理等具有重要意义。目前,关于微生物发酵床芽胞杆菌种类结构,数量分布,空间格局等的研究未见报道。本研究以 2100 m^2的微生物发酵床大栏养猪为研究对象,通过空间格局采样,用可培养法分离芽胞杆菌方法,对发酵床芽胞杆菌种类分布、数量分布、空间分布的多样性进行分析,利用空间分布型、多样性指数评估养猪微生物发酵床中芽胞杆菌的空间分布特征,为发酵床管理、猪粪资源化利用、猪病的生防等提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

2015 年 1 月 26 日,从福建省农业科学院福清现代设施农业样本工程示范基地大栏养猪微生物发酵床采集样品,发酵床垫料已使用 1a 至 1.5a 左右。该大栏发酵床猪场建筑面积为 2100 m^2(35 m × 60 m),发酵床槽面积 1910 m^2,除两个隔离栏,养殖面积为 1600 m^2,发酵床深度 80 cm,发酵床垫料由 70%椰糠和 30%谷壳组成。发酵床饲养 1600 头育肥猪,饲养密度为 1 头/m^2(图 1)。



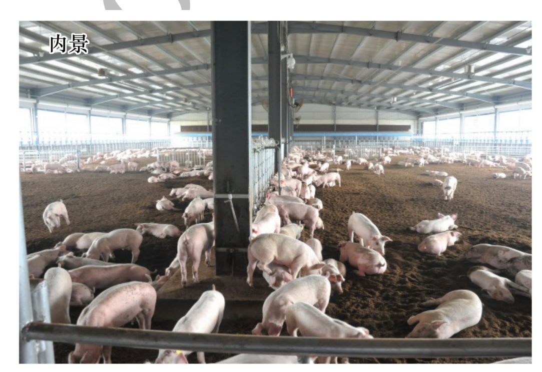


图 1 大栏微生物发酵床

Fig.1 The piggery bedding

采样方法:将大栏发酵床宽度方向划分 4 栏(行),长度方向划分 8 栏(列),每个栏采用五点取样方法采集 0—20 cm 的样品并混合获得栏的垫料样品,共采集 32 个空间的 32 个样品(图 2),装入无菌聚氯乙烯塑料瓶,带回实验室,并立即进行芽胞杆菌菌株的分离与保存。

1.2 仪器与试剂

PCR 仪和凝胶成像分析仪(Bio-Rad 公司);恒温培养箱(BI-250AG)购自施都凯仪器设备(上海)有限公司;2×PCR Master Mix 购自上海铂尚生物技术有限公司;引物由上海铂尚生物技术有限公司合成。LB 培养基:胰蛋白胨 10.0 g,酵母提取物 5.0 g,氯化钠 5.0 g,pH 7.2—7.4,琼脂 15.0 g,水 1.0 L。

1.3 微生物发酵床芽胞杆菌分离与鉴定

通过梯度稀释涂布法分离获得微生物发酵床样品中的芽胞杆菌,根据菌落形态特征等进行芽胞杆菌种类归类、统计计数及纯化,采用-80 ℃甘油冷冻法进行保存。采用 Tris-饱和酚法提取芽胞杆菌基因组 DNA。采用通用细菌 16S rRNA 引物进行扩增、测序,主要参考 Liu 等描述的方法[24]。16S rRNA 基因扩增引物为 27F(5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)和 1492R(5′-GGTTACCTTGTTACGACTT-3′)。检测出有条带的菌株 PCR 产物送至上海铂尚生物技术有限公司进行测序。将测序所得 16S rRNA 序列在韩国网站(EZtaxon-e.

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

ezbiocloud.net)上进行序列比对分析[25],初步判断得出芽胞杆菌种的分类地位。根据 Tindall 等描述,当 16S rRNA 相似性>97%时可定义为同一个分类单元[26]。

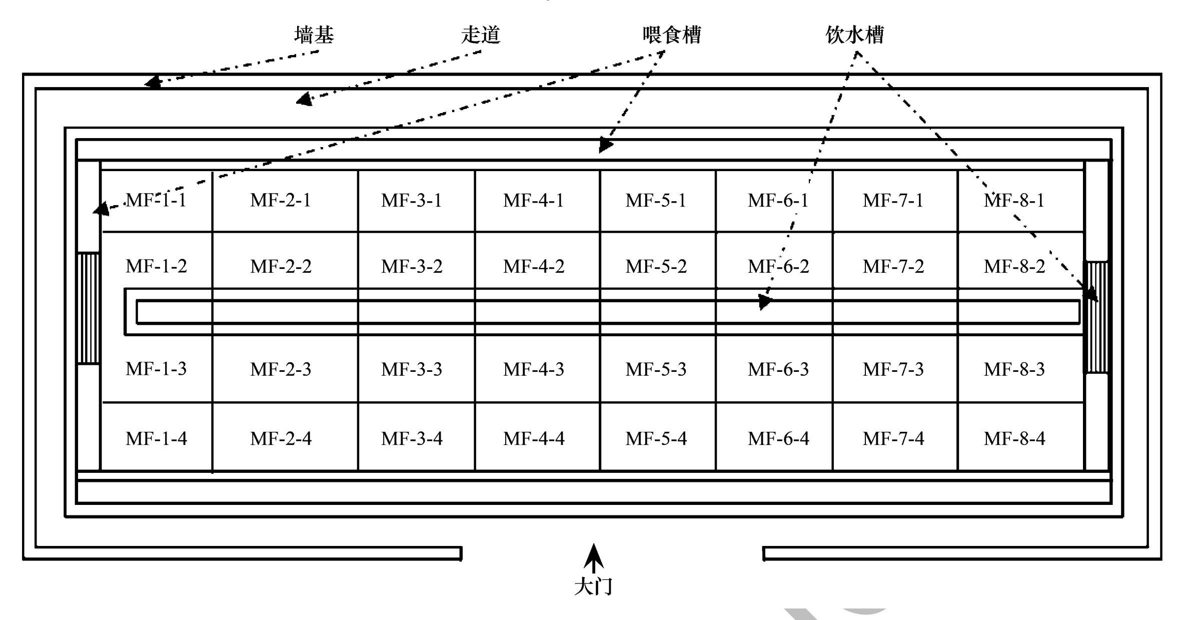


图 2　发酵床空间采集格局

Fig.2　Samples information collected from fermentation bed in the piggrey

1.4　微生物发酵床样方芽胞杆菌种类与数量空间分布

微生物发酵床划分成横向 4 个单元,纵向 8 个单元,共取样 32 个空间样本。统计各空间样本芽胞杆菌种类数、数量总和、最大值、最小值、平均值等,比较发酵床空间样本芽胞杆菌种类与数量的变化,绘制直方图分析芽胞杆菌种类在微生物发酵床空间样本中出现频次和数量。

1.5　微生物发酵床芽胞杆菌空间分布型

基于微生物发酵床 4 行 8 列采集方案,构建数据矩阵,统计每行样本芽胞杆菌平均值和方差,利用聚集度指标和回归分析法,分析芽胞杆菌样方空间分布型(表 1)。

表 1　微生物发酵床芽胞杆菌空间分布型指数

Table 1　Distribution index of *Bacillus*-lile species in the piggery bedding

聚集度指标 Aggregation indices	方程 Equation	注释 Note	判别 Discrimination
平均拥挤度(m^*) Mean Crowding intensity	$m^* = x + \frac{s^2}{x}$	x 为平均数, s^2 为方差	
I 指标 I index	$I = \frac{s^2}{x} - 1$	x 为平均数, s^2 为方差	当 I<0 时为均匀分布,当 I=0 时为随机分布,当 I>0 时为聚集分布
m^*/m 指标 m^*/m index	$\frac{m^*}{m} = \frac{m^*}{x}$	m^* 为平均拥挤度,x 为平均数	当 m^*/m<1 时为均匀分布;当 m^*/m=1 时为随机分布;当 m^*/m>1 时为聚集分布
CA 指标 CA index	$CA = (\frac{s^2}{x} - 1)/x$	s^2 为方差, x 为平均数	当 CA <0 时为均匀分布,当 CA =0 时为随机分布,当 CA >0 时为聚集分布
扩散系数(C) Diffusion coefficient	$C = s^2/x$		当 C<1 时为均匀分布,当 C = 1 时为随机分布,C>1 时为聚集分布
负二项分布 K 指标 K index of negative binomial distribution	$K = x^2/(s^2 - x)$		当 K<0 时为均匀分布,当 K=0 时为随机分布,当 K>0 时为聚集分布
m^*-m 回归分析法 m^*-m regression analysis	$m^* = \alpha + \beta x$		当 b<1 时,为均匀分布;当 b =1 时,为随机分布;当 b>1 时,为聚集分布
Talor 幂法则 Taylor's power law	$\lg s^2 = \lg a + b\lg x$		当 $b\to 0$ 时为均匀分布,b=1 时为随机分布,b>1 时为聚集分布

chinaXiv:201711.00057v1

http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

1.6 微生物发酵床芽胞杆菌多样性指数

以芽胞杆菌种类为样本,以样本为指标,构建数据矩阵,利用生物统计软件 PRIMER v5(Primer-E Ltd., Plymouth, United Kingdom [2001])进行计算、统计微生物发酵床芽胞杆菌种类出现频次、种类数量、丰富度指数(D)、均匀度指数(J')、优势度指数(λ)、Shannon-Wiener 指数(H')和 Hill 指数(N_1)。

以芽胞杆菌为样本,以多样性指数为指标,构建数据矩阵,通过生物统计软件 SPSS 16.0,以欧氏距离为尺度,用类平均法进行微生物发酵床芽胞杆菌多样性指数聚类分析。多样性指数公式如下:

1)丰富度指数(D)

$$D = (S - 1)/\lg(N)$$

2)均匀度指数(J')

$$J' = H'/\lg(S)$$

3)优势度指数(λ)

$$\lambda = \sum (P_i^2)$$

4)Shannon-Wiener 指数(H')

$$H' = \sum (P_i \times \lg P_i)$$

5)Hill 指数(N_1)

$$N_1 = \exp(H')$$

式中,$P_i = N_i/N$。N_i为第 i 种芽胞杆菌的数量,S 为芽胞杆菌占据的单元总数,N 为芽胞杆菌种类个体总数。

2 结果与分析

2.1 微生物发酵床芽胞杆菌的分离与鉴定

实验结果见表 2。根据菌落形态特征区分,从 32 份微生物发酵床空间样品中分离获得了芽胞杆菌 452 株,通过 16S rRNA 基因序列比对分析,所有芽胞杆菌菌株相似性皆大于 97.0%,鉴定为 48 个种,隶属于芽胞杆菌纲的 2 个科即芽胞杆菌科(Bacillaceae)和类芽胞杆菌科(Paenibacillaceae),8 个属即芽胞杆菌属(*Bacillus*)(30 种)、类芽胞杆菌属(*Paenibacillus*)(5 种)、赖氨酸芽胞杆菌属(*Lysinibacillus*)(6 种)、短芽胞杆菌属(*Brevibacillus*)(3 种)、鸟氨酸芽胞杆菌属(*Ornithinibacillus*)(1 种)、大洋芽胞杆菌属(*Oceanibacillus*)(1 种)、少盐芽胞杆菌属(*Paucisalibacillus*)(1 种)和纤细芽胞杆菌属(*Gracilibacillus*)(1 种)。

表 2 微生物发酵床芽胞杆菌种类分离与鉴定

Table 2 Isolation and identified of *Bacillus*-like species from the piggery bedding

编号 No.	菌株编号 Strain no	16S rRNA 相似性/% 16S rRNAsimilarity	物种名 Species name	种类数 Number
[1]	FJAT-41456	98.1	高地芽胞杆菌 *Bacillus altitudidns*	30
[2]	FJAT-41678	99.3	解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*	
[3]	FJAT-41614	99.5	阿氏芽胞杆菌 *Bacillus aryabhattai*	
[4]	FJAT-41708	100	蜡状芽胞杆菌 *Bacillus cereus*	
[5]	FJAT-41599	99.5	环状芽胞杆菌 *Bacillus circulans*	
[6]	FJAT-41623	99.7	克劳氏芽胞杆菌 *Bacillus clausii*	
[7]	FJAT-41407	99.10	蚯蚓芽胞杆菌 *Bacillus eiseniae*	
[8]	FJAT-41644	99.0	弯曲芽胞杆菌 *Bacillus flexus*	
[9]	FJAT-42923	99.3	海口芽胞杆菌 *Bacillus haikouensis*	
[10]	FJAT-41639	99.5	嗜盐噬糖芽胞杆菌 *Bacillus halosaccharovorans*	
[11]	FJAT-41679	99.8	霍氏芽胞杆菌 *Bacillus horneckiae*	
[12]	FJAT-41709	97.9	土地芽胞杆菌 *Bacillus humi*	
[13]	FJAT-41627	99.3	印空研芽胞杆菌 *Bacillus isronensis*	
[14]	FJAT-41629	99.7	柯赫芽胞杆菌 *Bacillus kochii*	

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

续表

编号 No.	菌株编号 Strain no	16S rRNA 相似性/% 16S rRNAsimilarity	物种名 Species name	种类数 Number
[15]	FJAT-41609	99.3	地衣芽胞杆菌 *Bacillus licheniformis*	
[16]	FJAT-41224	99.4	黄海芽胞杆菌 *Bacillus marisflavi*	
[17]	FJAT-41714	99.8	嗜常温芽胞杆菌 *Bacillus mesophilum*	
[18]	FJAT-41604	99.5	甲基营养型芽胞杆菌 *Bacillus methylotrophicus*	
[19]	FJAT-41602	98.2	尼氏芽胞杆菌 *Bacillus nealsonii*	
[20]	FJAT-41408	99.5	烟酸芽胞杆菌 *Bacillus niacini*	
[21]	FJAT-41206	98.8	海床类芽胞杆菌 *Bacillus oceanisediminis*	
[22]	FJAT-41638	99.0	蔬菜芽胞杆菌 *Bacillus oleronius*	
[23]	FJAT-41641	99.7	根际芽胞杆菌 *Bacillus rhizosphaerae*	
[24]	FJAT-41494	99.6	暹罗芽胞杆菌 *Bacillus siamensis*	
[25]	FJAT-41608	99.9	青贮窖芽胞杆菌 *Bacillus siralis*	
[26]	FJAT-41518	99.9	枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis*	
[27]	FJAT-41219	99.9	特基拉芽胞杆菌 *Bacillus tequilensis*	
[28]	FJAT-41593	98.2	泰门芽胞杆菌 *Bacillus timonensis*	
[29]	FJAT-41252	99.5	越南芽胞杆菌 *Bacillus vietnamensis*	
[30]	FJAT-41633	99.8	厦门芽胞杆菌 *Bacillus xiamenensis*	
[31]	FJAT-41635	99.9	波茨坦短芽胞杆菌 *Brevibacillus borstelensis*	3
[32]	FJAT-41467	99.2	居湖短芽胞杆菌 *Brevibacillus limnophilus*	
[33]	FJAT-41640	99.6	硝化短芽胞杆菌 *Brevibacillus nitrificans*	
[34]	FJAT-41653	99.0	海洋纤细芽胞杆菌 *Gracilibacillus marinus*	1
[35]	FJAT-41606	98.5	清国酱赖氨酸芽胞杆菌 *Lysinibacillus chungkukjangi*	6
[36]	FJAT-41646	97.5	堆肥赖氨酸芽胞杆菌 *Lysinibacillus composti*	
[37]	FJAT-41611	99.6	纺锤形赖氨酸芽胞杆菌 *Lysinibacillus fusiformis*	
[38]	FJAT-41610	99.7	耐盐赖氨酸芽胞杆菌 *Lysinibacillus halotolerans*	
[39]	FJAT-41612	99.6	长赖氨酸芽胞杆菌 *Lysinibacillus macroides*	
[40]	FJAT-41607	99.3	锰矿土赖氨酸芽胞杆菌 *Lysinibacillus manganicus*	
[41]	FJAT-42930	99.4	淤泥大洋芽胞杆菌 *Oceanobacillus caeni*	1
[42]	FJAT-41619	98.7	拾蛤鸟氨酸芽胞杆菌 *Ornithinibacillus scapharcae*	1
[43]	FJAT-41201	99.9	巴伦氏类芽胞杆菌 *Paenibacillus barengoltzii*	
[44]	FJAT-41656	99.0	人参土芽胞杆菌 *Paenibacillus ginsengiterrae*	
[45]	FJAT-41484	98.3	伊利诺伊类芽胞杆菌 *Paenibacillus illinoisensis*	
[46]	FJAT-41526	99.5	牛奶类芽胞杆菌 *Paenibacillus lactis*	
[47]	FJAT-41673	98.4	饲料类芽胞杆菌 *Paenibacillus pabuli*	
[48]	FJAT-41371	98.3	小球状少盐芽胞杆菌 *Paucisalibacillus globulus*	1

FJAT 是 FuJian Agaricultural Technology(福建农业科技)的缩写

2.2　微生物发酵床样本芽胞杆菌空间分布

2.2.1　微生物发酵床空间样本芽胞杆菌种类分布

实验结果见表 3。微生物发酵床划分成横向 4 个单元、纵向 8 个单元,共取样 32 个空间样本,分离鉴定统计各空间样本中芽胞杆菌的种类和数量,结果表明:(1)各空间样本芽胞杆菌种类差异很大,从最多的 14 种(MF-1-3)到最少的 5 种(MF-6-3);(2)芽胞杆菌分布在发酵床空间差异很大,有些芽胞杆菌种类分布在多个空间样本中,如阿氏芽胞杆菌(*Bacillus aryabhattai*)可以分布在空间样本 MF-1-1、MF-1-2、MF-1-3、MF-1-4 等 19 个空间样本中,有些种类只分布在特定的空间样本中,如海口芽胞杆菌(*Bacillus haikouensis*)仅分布在空间样本 MF-5-3,居湖短芽胞杆菌(*Brevibacillus limnophilus*)仅分布在空间样本 MF-4-1 等;(3)芽胞杆菌单个菌株在一个空间样本中的最大含量是环状芽胞杆菌(*Bacillus circulans*),分布数量为 50.0×10^6 个/g(MF-1-4);含量最小的是印空研芽胞杆菌(*Bacillus isronensis*)等,分布数量为 0.01×10^6 个/g(MF-4-3)。

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

表 3 微生物发酵床空间样本芽胞杆菌种类含量

Table 3 The content of *Bacillus*-like species from the piggery bedding

空间样本 Sample	菌株编号 Strain no	鉴定种类 Closest species	含量/(×10^6个/g) Content
MF-1-1	FJAT-41614	*Bacillus aryabhattai*	0.3
12 种	FJAT-41599	*Bacillus circulans*	5.0
	FJAT-41616	*Bacillus altitudinis*	1.0
	FJAT-41609	*Bacillus licheniformis*	8.0
	FJAT-41604	*Bacillus methylotrophicus*	1.0
	FJAT-41602	*Bacillus nealsonii*	2.3
	FJAT-41608	*Bacillus siralis*	0.2
	FJAT-41611	*Lysinibacillus fusiformis*	0.1
	FJAT-41610	*Lysinibacillus halotolerans*	0.1
	FJAT-41612	*Lysinibacillus macroides*	0.1
	FJAT-41606	*Lysinibacillus chungkukjangi*	1.0
	FJAT-41607	*Lysinibacillus manganicus*	0.3
MF-1-2	FJAT-41620	*Bacillus aryabhattai*	3.0
11 种	FJAT-41622	*Bacillus circulans*	2.0
	FJAT-41623	*Bacillus clausii*	1.0
	FJAT-41625	*Bacillus altitudinis*	1.0
	FJAT-41629	*Bacillus kochii*	2.0
	FJAT-41630	*Bacillus licheniformis*	1.0
	FJAT-41621	*Bacillus methylotrophicus*	5.0
	FJAT-41633	*Bacillus xiamenensis*	0.1
	FJAT-41627	*Bacillus isronensis*	1.0
	FJAT-41632	*Lysinibacillus halotolerans*	0.7
	FJAT-41619	*Ornithinibacillus scapharcae*	0.1
MF-1-3	FJAT-41636	*Bacillus nealsonii*	10.0
14 种	FJAT-41652	*Bacillus aryabhattai*	5.0
	FJAT-41642	*Bacillus circulans*	2.0
	FJAT-41639	*Bacillus halosaccharovorans*	2.0
	FJAT-41643	*Bacillus licheniformis*	2.0
	FJAT-41648	*Bacillus methylotrophicus*	2.0
	FJAT-41638	*Bacillus oleronius*	3.0
	FJAT-41641	*Bacillus rhizosphaerae*	0.1
	FJAT-41635	*Brevibacillus borstelensis*	0.1
	FJAT-41640	*Brevibacillus nitrificans*	0.2
	FJAT-41644	*Bacillus fiexus*	1.0
	FJAT-41649	*Lysinibacillus composti*	2.1
	FJAT-41650	*Lysinibacillus halotolerans*	0.2
	FJAT-41637	*Ornithinibacillus scapharcae*	0.2
MF-1-4 12 种	FJAT-41656	*Paenibacillus ginsengiterrae*	20.0
	FJAT-41658	*Bacillus aryabhattai*	20.0
	FJAT-41667	*Bacillus altitudinis*	0.2
	FJAT-41668	*Bacillus circulans*	50.0
	FJAT-41662	*Lysinibacillus halotolerans*	1.0
	FJAT-41663	*Bacillus halosaccharovorans*	4.0
	FJAT-41654	*Bacillus licheniformis*	0.4
MF-4-3	FJAT-41215	*Bacillus altitudinis*	0.5
7 种	FJAT-41209	*Bacillus isronensis*	0.01
	FJAT-41214	*Bacillus aryabhattai*	0.05
	FJAT-41220	*Bacillus kochii*	2.7
	FJAT-41216	*Bacillus licheniformis*	0.2
	FJAT-41219	*Bacillus tequilensis*	1.3
	FJAT-41213	*Bacillus subtilis*	1.0
MF-4-4	FJAT-41495	*Bacillus kochii*	0.1
7 种	FJAT-41488	*Bacillus eiseniae*	0.5
	FJAT-41489	*Bacillus licheniformis*	0.3
	FJAT-41494	*Bacillus siamensis*	0.07
	FJAT-41491	*Bacillus tequilensis*	2.5
	FJAT-41492	*Bacillus subtilis*	0.2
	FJAT-41496	*Gracilibacillus marinus´*	0.1
MF-5-1	FJAT-41504	*Bacillus altitudinis*	0.3
7 种	FJAT-41498	*Bacillus kochii*	0.8
	FJAT-41499	*Bacillus licheniformis*	1.5
	FJAT-41503	*Bacillus rhizosphaerae*	0.1
	FJAT-41511	*Bacillus tequilensis*	1.8
	FJAT-41506	*Lysinibacillus halotolerans*	0.7
	FJAT-41510	*Ornithinibacillus scapharcae*	1.2
MF-5-2	FJAT-41519	*Bacillus altitudinis*	0.02
11 种	FJAT-41512	*Bacillus amyloliquefaciens*	0.3
	FJAT-41513	*Bacillus cereus*	0.04
	FJAT-41515	*Bacillus fiexus*	0.18
	FJAT-41523	*Bacillus clausii*	0.12
	FJAT-41527	*Bacillus kochii*	0.02
	FJAT-41520	*Bacillus licheniformis*	0.48
	FJAT-41524	*Bacillus siamensis*	0.01
	FJAT-41518	*Bacillus subtilis*	0.08
	FJAT-41516	*Bacillus tequilensis*	0.09
	FJAT-41526	*Paenibacillus lactis*	0.15
MF-5-3	FJAT-42924	*Bacillus altitudinis*	0.1
8 种	FJAT-42919	*Bacillus aryabhattai*	0.3
	FJAT-42929	*Bacillus clausii*	0.1
	FJAT-42926	*Bacillus kochii*	0.4
	FJAT-42925	*Bacillus licheniformis*	0.5
	FJAT-42923	*Bacillus haikouensis*	1.0
	FJAT-42921	*Bacillus subtilis*	5.0
	FJAT-42930	*Oceanobacillus caeni*	0.2
MF-5-4	FJAT-41532	*Bacillus altitudinis*	0.12
7 种	FJAT-41536	*Bacillus clausii*	0.3
	FJAT-41542	*Bacillus kochii*	0.1
	FJAT-41537	*Bacillus licheniformis*	1.1

chinaXiv:201711.00057v1

http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201711.00057v1

续表

空间样本 Sample	菌株编号 Strain no	鉴定种类 Closest species	含量/(×10⁶个/g) Content
	FJAT-41660	*Bacillus methylotrophicus*	0.6
	FJAT-41666	*Bacillus nealsonii*	0.2
	FJAT-41661	*Bacillus oleronius*	1
	FJAT-41659	*Bacillus rhizosphaerae*	0.1
	FJAT-41653	*Gracilibacillus marinus*	0.1
MF-2-1 8 种	FJAT-41679	*Bacillus horneckiae*	1.0
	FJAT-41684	*Bacillus circulans*	4.3
	FJAT-41682	*Bacillus clausii*	2.0
	FJAT-41674	*Bacillus halosaccharovorans*	2.0
	FJAT-41683	*Bacillus altitudinis*	3.0
	FJAT-41670	*Bacillus licheniformis*	5.0
	FJAT-41673	*Paenibacillus pabuli*	0.2
	FJAT-41678	*Bacillus amyloliquefaciens*	2.0
MF-2-2 8 种	FJAT-41694	*Bacillus aryabhattai*	2.0
	FJAT-41689	*Bacillus circulans*	1.0
	FJAT-41690	*Bacillus clausii*	1.0
	FJAT-41700	*Bacillus halosaccharovorans*	7.0
	FJAT-41695	*Bacillus altitudinis*	2.0
	FJAT-41687	*Bacillus kochii*	0.2
	FJAT-41699	*Bacillus methylotrophicus*	0.5
	FJAT-41703	*Ornithinibacillus scapharcae*	0.4
MF-2-3 10 种	FJAT-41708	*Bacillus cereus*	1.0
	FJAT-41705	*Bacillus rhizosphaerae*	1.0
	FJAT-41709	*Bacillus humi*	1.0
	FJAT-41712	*Bacillus aryabhattai*	3.0
	FJAT-41713	*Bacillus circulans*	1.0
	FJAT-41718	*Bacillus halosaccharovorans*	1.0
	FJAT-41715	*Bacillus kochii*	2.0
	FJAT-41706	*Bacillus licheniformis*	3.0
	FJAT-41714	*Bacillus mesophilum*	1.0
	FJAT-41707	*Bacillus methylotrophicus*	1.7
MF-2-4 10 种	FJAT-41729	*Bacillus clausii*	2.0
	FJAT-41728	*Bacillus isronensis*	4.0
	FJAT-41736	*Bacillus rhizosphaerae*	2.0
	FJAT-41739	*Lysinibacillus halotolerans*	1.0
	FJAT-41734	*Bacillus aryabhattai*	3.0
	FJAT-41735	*Bacillus circulans*	2.0
	FJAT-41726	*Bacillus altitudinis*	2.0
	FJAT-41722	*Bacillus kochii*	3.0
	FJAT-41727	*Bacillus licheniformis*	0.7
	FJAT-41731	*Bacillus methylotrophicus*	0.9
MF-3-1 8 种	FJAT-41752	*Bacillus kochii*	1.0
	FJAT-41754	*Bacillus siralis*	2.0
	FJAT-41742	*Gracilibacillus marinus*	4.0
	FJAT-41746	*Bacillus aryabhattai*	2.0
	FJAT-41529	*Bacillus rhizosphaerae*	0.1
	FJAT-41541	*Bacillus tequilensis*	0.1
	FJAT-41539	*Lysinibacillus halotolerans*	0.6
MF-6-1 6 种	FJAT-41223	*Bacillus methylotrophicus*	0.29
	FJAT-41225	*Bacillus aryabhattai*	9.2
	FJAT-41236	*Bacillus circulans*	0.3
	FJAT-41234	*Bacillus kochii*	0.1
	FJAT-41235	*Bacillus licheniformis*	2.6
	FJAT-41224	*Bacillus marisflavi*	0.1
MF-6-2 6 种	FJAT-41552	*Bacillus altitudinis*	1.0
	FJAT-41548	*Bacillus clausii*	0.2
	FJAT-41545	*Bacillus licheniformis*	1.7
	FJAT-41551	*Bacillus methylotrophicus*	0.1
	FJAT-41549	*Bacillus tequilensis*	1.7
	FJAT-41544	*Brevibacillus borstelensis*	0.1
MF-6-3 5 种	FJAT-41244	*Bacillus methylotrophicus*	0.57
	FJAT-41255	*Bacillus aryabhattai*	2.4
	FJAT-41248	*Bacillus tequilensis*	0.06
	FJAT-41242	*Bacillus kochii*	1.0
	FJAT-41252	*Bacillus vietnamensis*	1.0
MF-6-4 7 种	FJAT-41143	*Bacillus clausii*	1.4
	FJAT-41146	*Lysinibacillus macrolides*	0.1
	FJAT-41142	*Bacillus siamensis*	1.0
	FJAT-41147	*Bacillus licheniformis*	2.6
	FJAT-41150	*Bacillus tequilensis*	1.0
	FJAT-41149	*Bacillus cereus*	1.0
	FJAT-41145	*Bacillus subtilis*	1.0
MF-7-1 7 种	FJAT-41167	*Bacillus altitudinis*	3.0
	FJAT-41175	*Bacillus circulans*	23.0
	FJAT-41172	*Bacillus kochii*	2.0
	FJAT-41168	*Bacillus licheniformis*	6.0
	FJAT-41166	*Bacillus subtilis*	1.0
	FJAT-41176	*Bacillus tequilensis*	4.0
	FJAT-41174	*Ornithinibacillus scapharcae*	1.0
MF-7-2 7 种	FJAT-41295	*Bacillus methylotrophicus*	0.05
	FJAT-41299	*Bacillus aryabhattai*	0.11
	FJAT-41305	*Bacillus circulans*	0.01
	FJAT-41307	*Bacillus kochii*	0.41
	FJAT-41302	*Bacillus licheniformis*	4.02
	FJAT-41301	*Lysinibacillus halotolerans*	0.2
MF-7-3 7 种	FJAT-41178	*Bacillus circulans*	0.3
	FJAT-41180	*Bacillus clausii*	0.4
	FJAT-41181	*Lysinibacillus halotolerans*	0.1
	FJAT-41182	*Bacillus kochii*	1.6
	FJAT-41184	*Bacillus licheniformis*	1.5

http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

续表

空间样本 Sample	菌株编号 Strain no	鉴定种类 Closest species	含量/ (×10^{6}个/g) Content
	FJAT-41750	*Bacillus altitudinis*	2.0
	FJAT-41741	*Bacillus licheniformis*	6.0
	FJAT-41747	*Bacillus methylotrophicus*	0.5
	FJAT-41740	*Ornithinibacillus scapharcae*	0.1
MF-3-2	FJAT-41382	*Bacillus aryabhattai*	2.0
8 种	FJAT-41375	*Bacillus circulans*	2.0
	FJAT-41374	*Bacillus halosaccharovorans*	1.0
	FJAT-41386	*Bacillus licheniformis*	15.0
	FJAT-41380	*Bacillus methylotrophicus*	0.6
	FJAT-41372	*Bacillus rhizosphaerae*	0.4
	FJAT-41392	*Lysinibacillus halotolerans*	0.2
	FJAT-41371	*Paucisalibacillus globulus*	0.2
MF-3-3	FJAT-41399	*Bacillus aryabhattai*	0.2
7 种	FJAT-41393	*Bacillus clausii*	0.4
	FJAT-41398	*Bacillus halosaccharovorans*	0.1
	FJAT-41395	*Bacillus kochii*	0.1
	FJAT-41396	*Bacillus licheniformis*	3.0
	FJAT-41397	*Bacillus rhizosphaerae*	1.0
	FJAT-41400	*Bacillus circulans*	1.0
MF-3-4	FJAT-41410	*Bacillus cereus*	0.2
9 种	FJAT-41409	*Bacillus aryabhattai*	0.2
	FJAT-41412	*Bacillus clausii*	0.4
	FJAT-41407	*Bacillus eiseniae*	0.2
	FJAT-41413	*Bacillus kochii*	0.4
	FJAT-41404	*Bacillus licheniformis*	0.2
	FJAT-41403	*Bacillus methylotrophicus*	0.2
	FJAT-41408	*Bacillus niacini*	0.2
	FJAT-41445	*Lysinibacillus halotolerans*	0.1
MF-4-1	FJAT-41458	*Bacillus altitudinis*	0.2
6 种	FJAT-41463	*Bacillus kochii*	0.4
	FJAT-41457	*Bacillus licheniformis*	1.3
	FJAT-41459	*Bacillus methylotrophicus*	0.6
	FJAT-41467	*Brevibacillus limnophilus*	0.2
	FJAT-41455	*Ornithinibacillus scapharcae*	0.3
MF-4-2	FJAT-41476	*Bacillus circulans*	0.1
9 种	FJAT-41474	*Bacillus altitudinis*	0.5
	FJAT-41468	*Bacillus kochii*	0.1
	FJAT-41469	*Bacillus licheniformis*	0.8
	FJAT-41473	*Bacillus methylotrophicus*	7.0
	FJAT-41475	*Bacillus siralis*	1.0
	FJAT-41470	*Lysinibacillus halotolerans*	1.0
	FJAT-41484	*Paenibacillus illinoisensis*	10.0
	FJAT-41483	*Paucisalibacillus globulus*	10.0
	FJAT-41179	*Bacillus methylotrophicus*	0.3
	FJAT-41190	*Bacillus subtilis*	0.1
MF-7-4	FJAT-41309	*Bacillus kochii*	0.16
5 种	FJAT-41312	*Bacillus altitudinis*	0.03
	FJAT-41317	*Bacillus methylotrophicus*	0.21
	FJAT-41318	*Bacillus aryabhattai*	0.2
	FJAT-41319	*Bacillus amyloliquefaciens*	0.2
MF-8-1	FJAT-41323	*Bacillus methylotrophicus*	0.18
7 种	FJAT-41322	*Bacillus aryabhattai*	1.2
	FJAT-41331	*Bacillus circulans*	0.1
	FJAT-41328	*Bacillus kochii*	0.1
	FJAT-41324	*Bacillus licheniformis*	2.9
	FJAT-41329	*Lysinibacillus halotolerans*	0.3
	FJAT-41330	*Bacillus amyloliquefaciens*	0.1
MF-8-2	FJAT-41595	*Bacillus methylotrophicus*	0.3
8 种	FJAT-41598	*Bacillus altitudinis*	0.1
	FJAT-41596	*Bacillus cereus*	0.2
	FJAT-41590	*Bacillus clausii*	0.9
	FJAT-41585	*Bacillus licheniformis*	1.6
	FJAT-41586	*Bacillus siamensis*	0.1
	FJAT-41597	*Bacillus tequilensis*	0.1
	FJAT-41593	*Bacillus timonensis*	0.1
MF-8-3	FJAT-41333	*Bacillus cereus group*	0.01
6 种	FJAT-41334	*Bacillus kochii*	0.03
	FJAT-41335	*Bacillus methylotrophicus*	0.11
	FJAT-41336	*Bacillus amyloliquefaciens*	0.01
	FJAT-41338	*Bacillus aryabhattai*	0.06
	FJAT-41343	*Bacillus licheniformis*	1.56
MF-8-4	FJAT-41205	*Bacillus amyloliquefaciens*	2.1
11 种	FJAT-41199	*Bacillus clausii*	0.3
	FJAT-41203	*Bacillus eiseniae*	0.1
	FJAT-41191	*Bacillus licheniformis*	0.7
	FJAT-41206	*Bacillus oceanisediminis*	0.1
	FJAT-41195	*Bacillus siamensis*	0.5
	FJAT-41192	*Bacillus subtilis*	1.1
	FJAT-41202	*Brevibacillus borstelensis*	0.1
	FJAT-41198	*Lysinibacillus halotolerans*	2.2
	FJAT-41197	*Ornithinibacillus scapharcae*	0.2
	FJAT-41201	*Paenibacillus barengoltzii*	0.1

chinaXiv:201711.00057v1
http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

2.2.2　微生物发酵床芽胞杆菌空间频次分布

基于表 3 统计,微生物发酵床芽胞杆菌种类空间出现频次分析结果见图 3。芽胞杆菌种类微生物发酵床 32 个空间样本中出现频次差异显著,有的种类广泛分布在空间样本中,有的种类分布在少数空间样本中,其分布广泛性可分为 3 类:第 I 类为广分布种类,有 8 个种分布在 14—29 个空间样本中,分别为地衣芽胞杆菌(*Bacillus licheniformis*)(29 样本)、柯赫芽胞杆菌(*B. kochii*)(23 样本)、甲基营养型芽胞杆菌(*B. methylotrophicus*)(21 样本)、高地芽胞杆菌(*B. altitudidns*)(18 样本)、阿氏芽胞杆菌(*B. aryabhattai*)(19 样本)、环状芽胞杆菌(*B. circulans*)(16 样本)、耐盐赖氨酸芽胞杆菌(*Lysinibacillus halotolerans*)(14 样本)和克劳氏芽胞杆菌(*B. clausii*)(14 样本)。第 II 类为寡分布种类,有 8 个种分布在 5—10 个空间样本中,它们是特基拉芽胞杆菌(*B. tequilensis*)(10 样本)、根际芽胞杆菌(*B. rhizosphaerae*)(8 样本)、拾蛤乌氨酸芽胞杆菌(*Ornithinibacillus scapharcae*)(8 样本)、嗜盐噬糖芽胞杆菌(*B. halosaccharovorans*)(7 样本)、解淀粉芽胞杆菌(*B. amyloliquefaciens*)(6 样本)、蜡状芽胞杆菌(*B. cereus*)(6 样本)、枯草芽胞杆菌(*B. subtilis*)(8 样本)和暹罗芽胞杆菌(*B. siamensis*)(5 样本)。第 III 类为少分布种类,其余的 32 个种分布在 1—4 个空间样本中。特别注意地是类芽胞杆菌和短芽胞杆菌在这都属于少分布种类,常见的蜡状芽胞杆菌和枯草芽胞杆菌属于寡分布类型的种类。

2.2.3　微生物发酵床芽胞杆菌数量分布

基于表 3 统计,微生物发酵床芽胞杆菌数量分布结果见图 4。微生物发酵床 48 种芽胞杆菌数量最大值 94.11×10^6个/g,最小值为 0.1×10^6个/g,平均值为 8.96×10^6个/g。根据数量分布可将其分为 4 类,第 I 类为高含量组,优势种群,占比 16.7%,数量分布在(17—94)×10^6个/g 之间,属于该类的芽胞杆菌有环状芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌、阿氏芽胞杆菌、甲基营养型芽胞杆菌、人参土芽胞杆菌(*Paenibacillus ginsengiterrae*)、柯赫芽胞杆菌、高地芽胞杆菌和嗜盐噬糖芽胞杆菌;第 II 类为中含量组,常见种群,占比 14.6%,数量分布在(8—13)×10^6个/g 之间,属于该类的芽胞杆菌包含特基拉芽胞杆菌、克劳氏芽胞杆菌、尼氏芽胞杆菌(*B. nealsonii*)、小球状少盐芽胞杆菌(*Paucisalibacillus globulus*)、伊利诺伊类芽胞杆菌(*Paenibacillus illinoisensis*)、枯草芽胞杆菌和耐盐赖氨酸芽胞杆菌;第 III 类为寡含量组,寡见种群,占比 18.76%,数量分布在(3—5)×10^6个/g 之间,属于该类的为印空研芽胞杆菌(*B. isronensis*)、根际芽胞杆菌、解淀粉芽胞杆菌(*B. amyloliquefaciens*)、海洋纤细芽胞杆菌(*Gracilibacillus marinus*)、蔬菜芽胞杆菌(*Bacillus oleronius*)、拾蛤乌氨酸芽胞杆菌(*Or. scapharcae*)、青贮窖芽胞杆菌(*Bacillus siralis*)、蜡状芽胞杆菌和堆肥赖氨酸芽胞杆菌(*Lysinibacillus composti*);第 IV 类为低含量组,偶见种群,占比 50%,数量分布在(2—0.1)×10^6个/g 之间,属于该类的芽胞杆菌有蜡状芽胞杆菌、暹罗芽胞杆菌(*Bacillus siamensis*)、海口芽胞杆菌(*B. haikouensis*)、霍氏芽胞杆菌(*Bacillus horneckiae*)、土地芽胞杆菌(*Bacillus humi*)、嗜常温芽胞杆菌(*Bacillus mesophilum*)、越南芽胞杆菌(*Bacillus vietnamensis*)、清国酱赖氨酸芽胞杆菌(*Lysinibacillus chungkukjangi*)、波茨坦短芽胞杆菌(*Brevibacillus borstelensis*)、锰矿土赖氨酸芽胞杆菌(*Lysinibacillus manganicus*)、烟酸芽胞杆菌(*Bacillus niacini*)、居湖短芽胞杆菌(*Brevibacillus limnophilus*)、硝化短芽胞杆菌(*Brevibacillus nitrificans*)、长赖氨酸芽胞杆菌(*L. macroides*)、淤泥大洋芽胞杆菌(*Oceanibacillus caeni*)、饲料类芽胞杆菌(*Paenibacillus pabuli*)、牛奶类芽胞杆菌(*Paenibacillus lactis*)、弯曲芽胞杆菌(*B. flexus*)、黄海芽胞杆菌(*B. marisflavi*)、海床类芽胞杆菌(*B. oceanisediminis*)、泰门芽胞杆菌(*B. timonensis*)、厦门芽胞杆菌(*B. xiamenensis*)、纺锤形赖氨酸芽胞杆菌(*L. fusiformis*)和巴伦氏类芽胞杆菌(*Paenibacillus barengoltzii*)。

2.3　微生物发酵床芽胞杆菌空间分布型

基于表 3,将 4 横 8 纵分割的 32 个空间样本单元内的各芽胞杆菌数量按单元分别作总和统计,考察芽胞杆菌作为一个种群在发酵床的空间分布型,统计结果见表 4。结果表明:微生物发酵床空间样本单元芽胞杆菌数量分布差异很大,其中样本中数量最高的是 97.6×10^6个/g,位于空间样本 M-4-1,最低的是 0.800×10^6个/g,位于空间样本 M-7-4,平均值为 13.77×10^6个/g。利用表 3 数据统计空间分布型指数见表 5。空间分布型的

chinaXiv:201711.00057v1

http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201711.00057v1

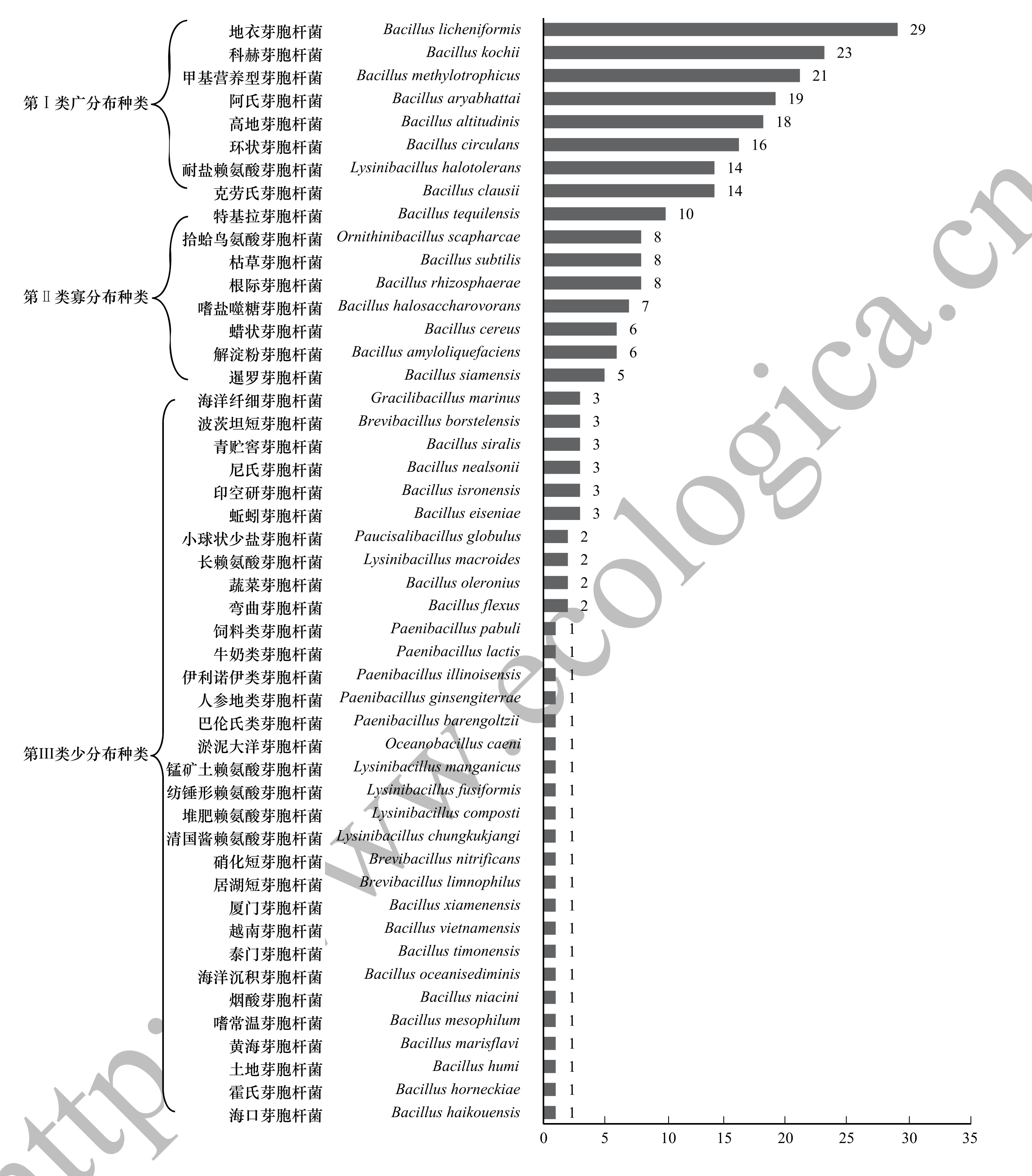


图 3 微生物发酵床空间样本芽胞杆菌出现频次

Fig.3 Occurrence frequency of *Bacillus*-like in the piggery bedding

聚集度测定结果表明,芽胞杆菌 I 指标 = 22.6183>0,为聚集分布;平均拥挤度(m^*/m)指标 = 2.4212>1,为聚集分布;CA 指标 = 1.4212>0,为聚集分布;扩散系数(C)= 23.6183>1,为聚集分布;负二项分布 K 指标 = 1.0778>0,为聚集分布,表明芽胞杆菌在发酵床中分布为聚集分布。

研究拥挤度(m^*)与平均值(m)之间的关系,用 m^*-m 回归分析,建立 m^*-m 回归式 $m^* = a+bm$,结果表明,m^*-m 回归方程(IWAO)为 $m^* = -47.1208+5.9076m$,$r = 0.7795$;$a = -47.1208<0$,表明芽胞杆菌微生物个体群之间相互排斥,$b = 5.9076>1$,表明芽胞杆菌空间分布型为聚集分布。运用幂法则分析表明,Taylor 幂法则方

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:201711.00057v1

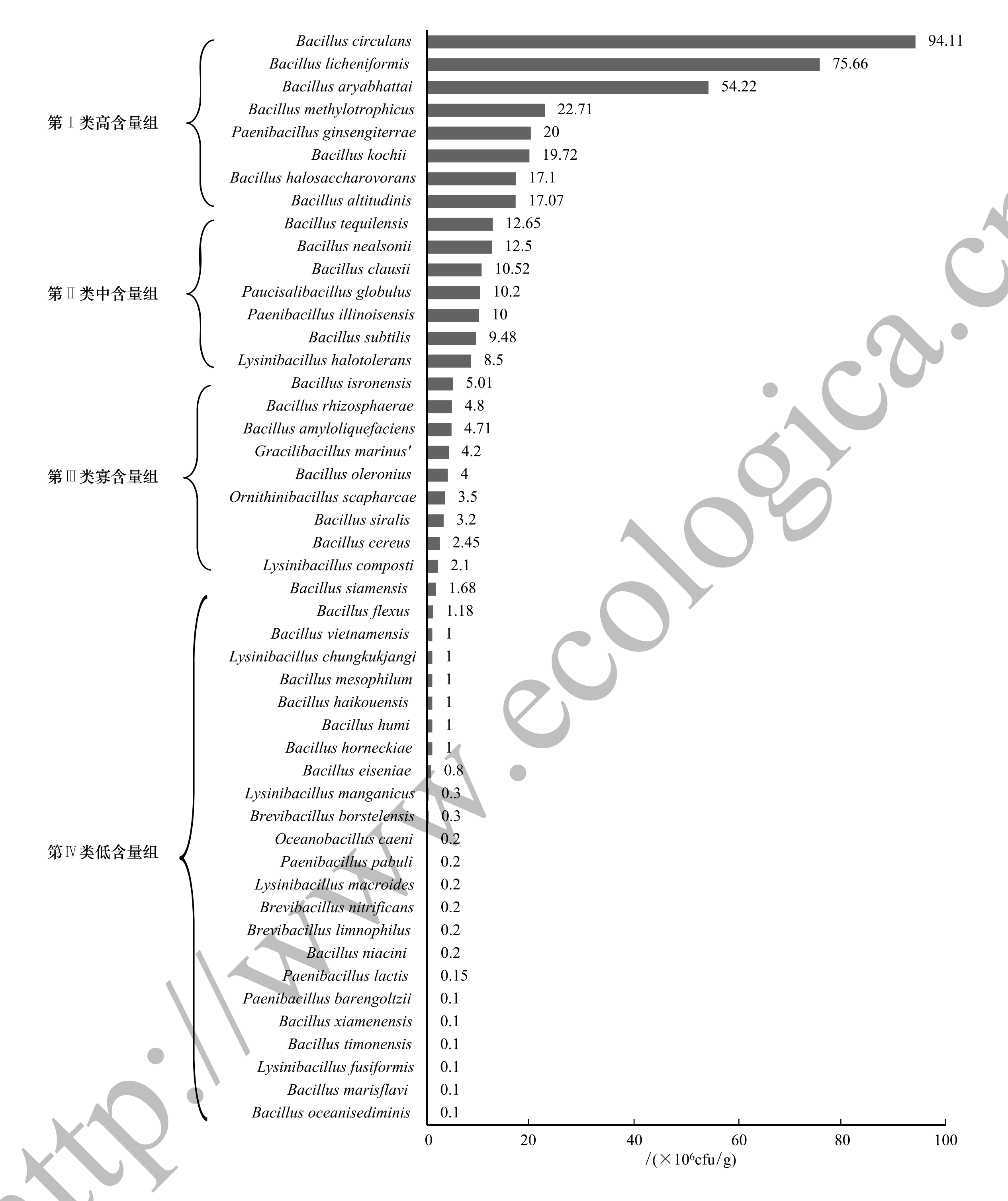


图 4　微生物发酵床芽胞杆菌数量分布多样性

Fig.4　Distribution diversity of *Bacillus*-like species in the piggery bedding

程为 $\lg(s)=-1.2876+3.1966\lg(x)$，$r=0.8233$，$b=3.1966>1$，为聚集分布。

综上所述，养猪微生物发酵床芽胞杆菌空间分布为聚集分布。

2.4　微生物发酵床芽胞杆菌多样性指数

2.4.1　微生物发酵床芽胞杆菌空间分布多样性

基于表 4 统计，芽胞杆菌总体多样性指数结果见表 6。芽胞杆菌含量范围为(0.01—9.411)$\times10^7$个/g；48 种芽胞杆菌总含量达 4.41×10^8个/g；丰富度指数(D)、优势度指数(λ)、Shannon-Wiener 指数(H')、均匀度指

ChinaXiv合作期刊

数(J')分别为 10.49276、0.26342、1.3589、0.98027。芽胞杆菌数量达 1.5×10^7个/g 以上的种类有环状芽胞杆菌(9.411×10^7个/g)、地衣芽胞杆菌(7.566×10^7个/g)、阿氏芽胞杆菌(5.4223×10^7个/g)、甲基营养型芽胞杆菌(2.271×10^7个/g)、人参土芽胞杆菌(2.000×10^7个/g)、柯赫芽胞杆菌(1.972×10^7个/g)、嗜盐噬糖芽胞杆菌(1.710×10^7个/g)。

表 4 微生物发酵床空间样本芽胞杆菌含量

Table 4 The content of *Bacillus*-like species in the piggery bedding

采样位置 Location		列坐标 Column coordinate/($\times10^6$个/g)								平均值 Average	方差 Variance
		1	2	3	4	5	6	7	8		
行坐标	1	19.4000	19.5000	18.6000	3.0000	6.4000	12.5900	40.0000	4.8800	15.5463	172.6288
Row-coordinate	2	16.9000	14.1000	21.4000	30.5000	1.4900	4.8000	4.8000	3.4000	12.1738	157.3118
	3	29.9000	15.7000	5.8000	5.7600	7.6000	5.0300	4.4000	1.7800	9.4963	85.1001
	4	97.6000	20.6000	2.1000	3.7700	2.4200	8.1000	0.8000	7.5000	17.8613	1142.4909

表 5 微生物发酵床芽胞杆菌空间分布型指数

Table 5 The distribution index of *Bacillus*-like species in the piggery bedding

样方行 Sample row	拥挤度 m^* Congestion degree	I 指标 I index	m^*/m 指标 m^*/m index	CA 指标 CA index	扩散系数 C Diffusion coefficient	K 指标 K index
1	25.8085	9.7499	1.6071	0.6071	10.7499	1.6471
2	24.1162	10.9300	1.8289	0.8289	11.9300	1.2064
3	17.4526	8.0706	1.8602	0.8602	9.0706	1.1625
4	79.9375	61.7225	4.3886	3.3886	62.7225	0.2951
平均值 Average	36.8287	22.6183	2.4212	1.4212	23.6183	1.0778

表 6 微生物发酵床芽胞杆菌群落多样性指数

Table 6 Diversity index of *Bacillus*-like species in the piggery bedding

项目 Item	数量 Account	项目 Item	数量 Account
空间样方数 Samples	32	优势度指数 Simpson diversity index(λ)	0.2634
芽胞杆菌含量 Content of *Bacillus* /($\times10^7$个/g)	4.4062	Shannon-Wiener 指数 Shannon-Wiener index(H')	1.3589
丰富度指数 Richness index(D)	0.4928	均匀度指数 Pielou's evenness index(J')	0.9803

2.4.2 微生物发酵床芽胞杆菌种类分布多样性

芽胞杆菌种类多样性指数基于表 3 计算,结果见表 7。芽胞杆菌 Shannon-Wiener 指数范围 0—2.88,最大的种类为地衣芽胞杆菌(2.88),最小的种类为海口芽胞杆菌、黄海芽胞杆菌、海洋芽胞杆菌等 22 种芽胞杆菌;优势度指数范围 0.08—1,最大的种类是黄海芽胞杆菌、海洋芽胞杆菌等 22 种芽胞杆菌,最小的种类是地衣芽胞杆菌(0.08);Hill 指数范围 1—17.75,最大的种类是地衣芽胞杆菌(17.75),最小的种类是海口芽胞杆菌、黄海芽胞杆菌、海洋芽胞杆菌等 22 种芽胞杆菌;芽胞杆菌丰富度指数范围 0—7.71,最大的种类是,最小的种类为海口芽胞杆菌、黄海芽胞杆菌、海洋芽胞杆菌等 22 种芽胞杆菌;均匀度指数范围 0—1,最大的种类是长赖氨酸芽胞杆菌和波茨坦短芽胞杆菌,最小的种类是黄海芽胞杆菌、海洋芽胞杆菌等 22 种芽胞杆菌。

2.4.3 微生物发酵床芽胞杆菌多样性指数聚类分析

芽胞杆菌多样性指数聚类分析,根据表 7 数据,以欧式距离为尺度,用类平均法进行系统聚类,作图 5。当 $\lambda=17$ 时,可将其分为 2 类:

第 I 类为高丰富度高含量类型,包括了 7 个种,即甲基营养型芽胞杆菌、耐盐赖氨酸芽胞杆菌、高地芽胞杆菌、克劳氏芽胞杆菌、阿氏芽胞杆菌、科赫芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌。

chinaXiv:201711.00057v1
http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

表 7　发酵床芽胞杆菌种类空间分布多样性

Table 7　Distribution diversity of *Bacillus*-like species in the piggery bedding

种类 Species	分布频次 Frequency distribution	含量 Content/ (10^7个/g)	丰富度指数 (D) Richness index	均匀度指数(J') Pielou′s evenness index	Shannon-Wiener 指数(H') Shannon-Wiener index	优势度指数 (λ) Simpson index	Hill 指数 (N_1) Hill index
Bacillus licheniformis	29	7.566	6.47	0.85	2.88	0.08	17.75
Bacillus kochii	23	1.972	7.38	0.81	2.55	0.10	12.85
Bacillus methylotrophicus	21	2.271	6.40	0.75	2.27	0.16	9.72
Bacillus aryabhattai	19	5.322	4.53	0.70	2.06	0.20	7.84
Bacillus altitudinis	18	1.707	5.99	0.82	2.36	0.12	10.59
Bacillus circulans	16	9.411	3.30	0.54	1.50	0.35	4.49
Bacillus clausii	14	10.52	5.52	0.87	2.30	0.12	10.01
Lysinibacillus halotolerans	14	0.850	6.07	0.86	2.28	0.13	9.77
Bacillus tequilensis	10	12.65	3.55	0.78	1.80	0.19	6.07
Bacillus rhizosphaerae	8	0.480	4.46	0.74	1.55	0.27	4.70
Bacillus subtilis	8	0.948	3.11	0.71	1.47	0.33	4.34
Ornithinibacillus scapharcae	8	0.350	5.59	0.82	1.71	0.23	5.55
Bacillus halosaccharovorans	7	1.710	2.11	0.81	1.57	0.26	4.80
Bacillus amyloliquefaciens	6	0.471	3.23	0.63	1.13	0.39	3.09
Bacillus cereus	6	0.245	5.58	0.69	1.23	0.35	3.42
Bacillus siamensis	5	0.168	7.71	0.62	1.00	0.45	2.72
Bacillus isronensis	3	0.501	1.24	0.47	0.51	0.68	1.67
Bacillus eiseniae	3	0.080	0.00	0.82	0.90	0.47	2.46
Bacillus nealsonii	3	1.250	0.79	0.51	0.56	0.67	1.74
Brevibacillus borstelensis	3	0.030	0.00	1.00	1.10	0.33	3.00
Bacillus siralis	3	0.320	1.72	0.76	0.83	0.49	2.29
Gracilibacillus marinus	3	0.420	1.39	0.20	0.22	0.91	1.25
Bacillus flexus	2	0.118	6.04	0.62	0.43	0.74	1.53
Lysinibacillus macrolides	2	0.020	0.00	1.00	0.69	0.50	2.00
Paucisalibacillus globulus	2	1.020	0.43	0.14	0.10	0.96	1.10
Bacillus oleronius	2	0.400	0.72	0.81	0.56	0.63	1.75
Bacillus haikouensis	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus horneckiae	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus humi	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus marisflavi	1	0.010	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus mesophilum	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus niacini	1	0.020	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus oceanisediminis	1	0.010	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus timonensis	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus vietnamensis	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Bacillus xiamenensis	1	0.010	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Brevibacillus limnophilus	1	0.020	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Brevibacillus nitrificans	1	0.020	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Lysinibacillus chungkukjangi	1	0.100	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Lysinibacillus composti	1	0.210	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Lysinibacillus fusiformis	1	0.010	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Lysinibacillus manganicus	1	0.030	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Oceanobacillus caeni	1	0.020	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Paenibacillus barengoltzii	1	0.010	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Paenibacillus ginsengiterrae	1	2.000	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Paenibacillus illinoisensis	1	1.000	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Paenibacillus lactis	1	0.015	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00
Paenibacillus pabuli	1	0.020	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00

chinaXiv:201711.00057v1

http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

第 II 类为较低丰富度较低含量类型,该类分为 2 个亚类,第一亚类为中等丰富度中等含量的类型,包括了 10 个种,即弯曲芽胞杆菌、蜡状芽胞杆菌、暹罗芽胞杆菌、环状芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌、嗜盐噬糖芽胞杆菌、解淀粉芽胞杆菌、拾蛤鸟氨酸芽胞杆菌、根际芽胞杆菌、特基拉芽胞杆菌。第二亚类为低丰富度低含量的类型,其余的 31 个种。

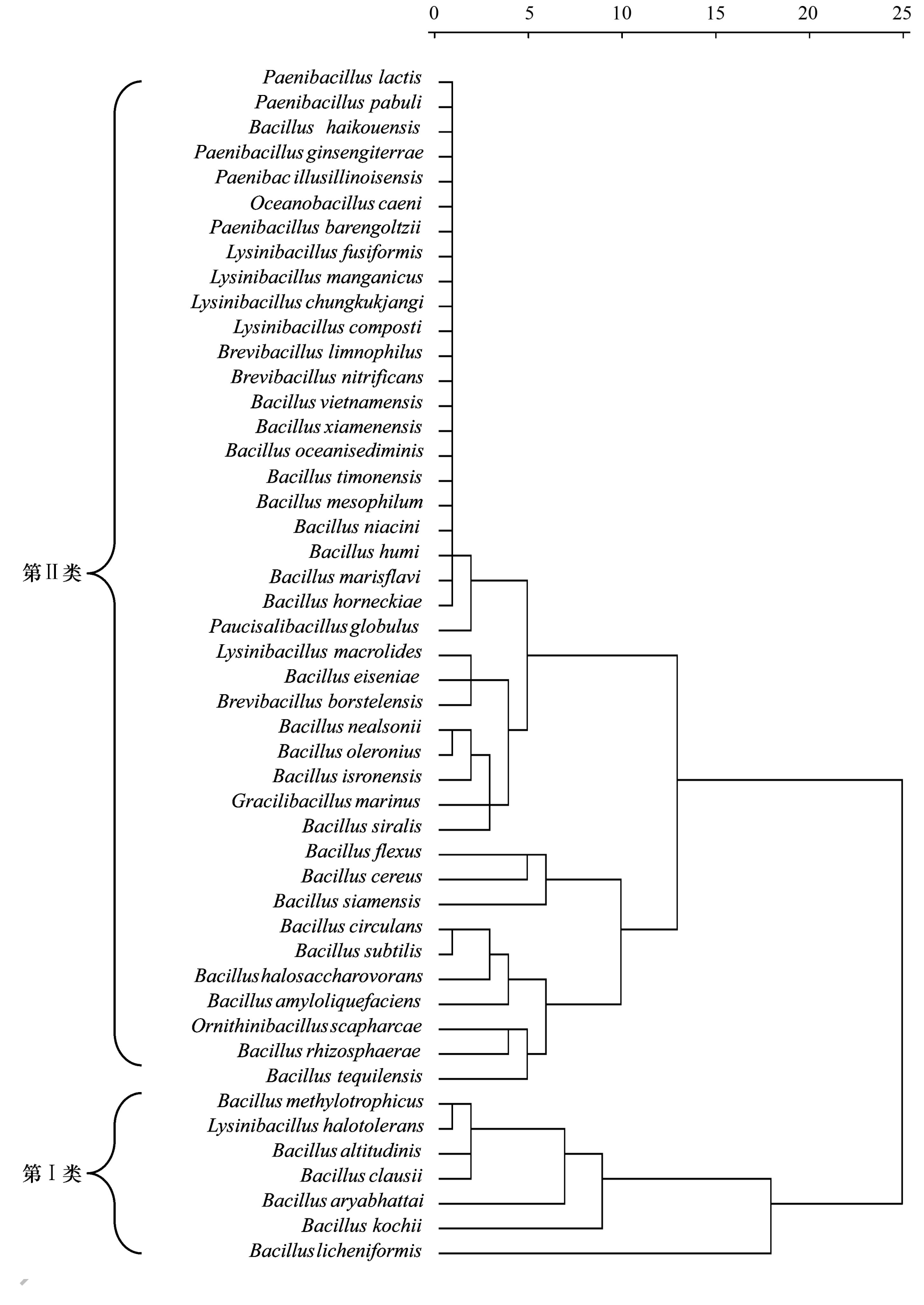


图 5 芽胞杆菌种类分布聚类分析

Fig.5 Distribution analysis of *Bacillus*-like speceis

3 讨论

微生物发酵床养猪是近几年发展起来的一种现代化生态养猪模式和技术体系,目前在我国各地得到了广泛应用。微生物发酵床能高效分解猪粪、消除恶臭,并最终将猪粪转化形成人工腐殖质,而后者又可以进一步研制成微生物肥料、生物农药、生物育苗与栽培基质等高值产品,因此,同时实现了养猪污染的原位微生物治理和猪粪的资源化利用。在此过程中,微生物起到了关键作用。前期,作者所在课题组利用高通量宏基因组

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

学技术分析了发酵床垫料中的微生物多样性,发现发酵床垫料中的微生物多样性极其丰富,而且存在着种类多样的芽胞杆菌(*Bacillus*-like)(数据待发表)。

芽胞杆菌是一类重要的微生物资源,种类繁多,可以产生多种具有抑菌功能物质,如 I 和 II 类羊毛硫抗生素(lantibiotics)[27]。因此,芽胞杆菌对猪群具有抗菌防病功能,具有作为益生菌开发的潜力。Manhar 等研究发现枯草芽胞杆菌 AMS6 具有耐强酸(pH 2.0)和胆汁(0.3%)、高抗菌活性、抗病原菌黏附和较强的纤维素降解能力等益生菌特性,作为饲料添加剂可以增强动物纤维素消化和肠道健康[28]。Lopetuso 等综述了益生克劳氏芽胞杆菌的临床应用效果、益生菌与肠道屏障相互作用、重建肠道平衡的可能作用机理[29]。大量研究表明,芽胞杆菌还具有高效降解猪粪中的有机物、抗生素、药物等及除臭、减少氨气排放等功能[30-34]。

为了进一步分析微生物发酵床垫料中可培养芽胞杆菌种群及其空间分布规律,本文通过稀释涂布平板和 16S rRNA 基因系统发育结合法研究垫料中的可培养芽胞杆菌空间分布多样性。结果表明:1)微生物发酵床垫料中的可培养芽胞杆菌种类极其多样,从 32 份微生物发酵床样品共分离获得芽胞杆菌 452 株,隶属于芽胞杆菌科和类芽胞杆菌科 8 个属的 48 个种;2)发酵床垫料中的芽胞杆菌呈现出非常高的丰度,其中,丰度最高的达到 94.11×10^6 个/g,最低的也达到了 0.1×10^6 个/g,平均丰度高达 8.96×10^6 个/g;3)优势芽胞杆菌种群分别为地衣芽胞杆菌、阿氏芽胞杆菌、环状芽胞杆菌、柯赫芽胞杆菌、甲基营养型芽胞杆菌、高地芽胞杆菌等;4)微生物发酵床不同空间的芽胞杆菌数量分布差异很大,表现为聚集分布型。这些结果表明,芽胞杆菌是发酵床垫料中的重要微生物种群,也提示:猪粪对芽胞杆菌的富集起到了一定作用。

尽管发酵床垫料芽胞杆菌种群及其空间分布的研究较少报道,但国内外研究者在其他含有猪粪环境(如猪粪耗氧、厌氧堆肥)开展的相关研究也发现了类似结果。如,Yi 等利用可培养、限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)和变性剂梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)法分析发现猪粪堆肥过程中可培养芽胞杆菌的数量和时空分布特性随着温度的改变发生了显著地变化,枯草芽胞杆菌和蜡样芽胞杆菌为优势种,在各阶段,芽胞杆菌的多样性均较低;在高温阶段堆肥各层的芽胞杆菌含量最高,而在各阶段的堆肥中间层含量均最低[35]。Guo 等采用 PCR-RFLP 法研究发现猪粪堆肥降温阶段堆肥中间层芽胞杆菌属是优势种群,底层优势种群则为梭菌属[36]。Li 等分析发现牛粪高温堆肥阶段芽胞杆菌属、地芽胞杆菌属(*Geobacillus*)和尿素芽胞杆菌属(*Ureibacillus*)是优势属,热脱氮地芽胞杆菌(*G. thermodenitrificans*)是优势种;在高温后期,就地堆肥地芽胞杆菌(*G. toebii*)和领地尿素芽胞杆菌(*U. terrenus*)是优势种[37]。Guo 等也发现猪粪高温堆肥过程中芽胞杆菌属是各层最常见种群[38]。He 等研究表明芽胞杆菌种类在鸡粪堆肥各个阶段均有较高的含量[39]。本文研究结果与上述不完全一致,发酵床垫料的优势属与上述相同亦为芽胞杆菌属,但优势种群不一致。本研究亦获得了猪粪堆肥过程中的优势种枯草芽胞杆菌和蜡质芽胞杆菌,但该 2 种芽胞杆菌非发酵床的优势种群。牛粪高温堆肥的优势种未在养猪发酵床垫料中发现,其种群结构与猪粪的差异很大。本研究发现养猪发酵床中仅次于芽胞杆菌属的种群为赖氨酸芽胞杆菌属,而该属在猪粪和牛粪堆肥过程皆不为优势属。微生物发酵床芽胞杆菌种类分布多样性指数不均一,可能与发酵床的发酵等级和芽胞杆菌种类对发酵床成分的适应性和利用有关。有些芽胞杆菌种类出现富集成为优势种,几乎存在于整个发酵床,如地衣芽胞杆菌,但有些适应力弱导致其数量少,仅在某些位置存在。这说明垫料发酵程度对微生物种类分布有很大的影响。薛超等发现连作会造成土壤微生物的选择适应性,出现一些种群富集,而一些种群数量降低的现象[40],进而导致不同茬次营养基质中微生物对碳源数量的利用能力出现显著差异[41]。微生物发酵床主要成分为椰糠和谷壳等高纤维材料,所构建出的生存环境适合于能降解纤维的微生物生存。叶少文等分析了微生物发酵床垫料不同深度酶活,发现垫料中纤维素酶活和半纤维素酶活性很高,揭示了一类微生物的生存空间[42]。

在养猪微生物发酵床芽胞杆菌优势种群中,地衣芽胞杆菌能够产生纤维素酶、果胶酶、淀粉酶、蛋白酶等[43-44],这些酶作用能为地衣芽胞杆菌的生存提供碳源和氮源能量来源,Mc Carthy 等发现地衣芽胞杆菌是猪粪固体堆肥过程的优势可培养微生物,这就印证了本研究中地衣芽胞杆菌是养猪发酵床垫料中优势种群结果的可靠性[45]。Islas-Espinoza 等发现地衣芽胞杆菌能降解猪粪中难降解的合成抗生素磺胺类药物,表明养猪

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

微生物发酵床中大量地衣芽胞杆菌的存在在猪粪降解过程扮演着重要角色[32]。阿氏芽胞杆菌具有坚强的生命力,分布范围广。优势种高地芽胞杆菌是一种多功能芽胞杆菌,能产生碱性蛋白酶[46],可以用于固体发酵的添加菌剂[47]。优势种阿氏芽胞杆菌和高地芽胞杆菌的强大存在可能与发酵床的发酵健康程度密切相关。环状芽胞杆菌在微生物发酵床的广泛存在与发酵床具有生防抗病作用有一定的相关性。环状芽胞杆菌作为发酵床的优势种群是一种重要的动物益生菌,它不仅能产生抑制猪病原菌的物质和表面活性剂[48],同时,还可以作为堆肥发酵程度检测指标[49]。优势种嗜盐噬糖芽胞杆菌源于盐碱土壤分离,关于此菌报道甚少,属于芽胞杆菌脂肪酸群 III,特性就是可以在偏盐碱性环境生存[50]。蓝江林等发现微生物发酵床垫料含盐量很高,且 pH 普遍在 8.0—9.0 之间,随着发酵时间的增加,垫料中的盐浓度和 pH 皆呈上升状态[51]。因此,发酵床垫料的高盐碱度很可能是导致耐(嗜)盐碱芽胞杆菌种类存在的主要原因。优势种科赫芽胞杆菌文献报道较少,该菌最初是从乳制品分离获得,有着非常宽广的生长条件,如温度范围 10—40 ℃、酸碱度范围 pH 6.0—10.5、盐度范围 0%—10% NaCl[52],该菌的生长特性适应微生物发酵床发酵过程生长条件极端变化而广泛分布。

微生物发酵床含有丰富的微生物资源,通过微生物发酵床芽胞杆菌种群多样性分析,获得了大量的芽胞杆菌资源,这为进一步挖掘新功能和新物种提供了重要来源。关于芽胞杆菌种群变化与微生物发酵床生态功能的关联有待于进一步探讨和研究。

参考文献(References):

[1] 包武, 李元钦, 钱午巧, 蔡元呈, 邹以强, 朱光荣 陈钧生. 福建省生猪养殖污染状况及治理对策. 安徽农学通报, 2013, 19(18): 90-94, 105-105.

[2] 郑雪芳, 刘波, 林营志, 蓝江林, 刘丹莹. 利用磷脂脂肪酸生物标记分析猪舍基质垫层微生物亚群落的分化. 环境科学学报, 2009, 29(11): 2306-2317.

[3] 赵冬青, 吴建平, 段淇斌. 生物发酵床养猪效能和猪肉营养成分影响研究. 草业学报, 2012, 21(2): 212-218.

[4] 李买军, 马晗, 郭海宁, 尹微琴, 王小治, 封克, 顾洪如. 养猪场发酵床垫料及下层土壤中酶活性变化特性研究. 农业环境科学学报, 2014, 33(4): 777-782.

[5] 张履祥. 沈氏农书. 北京: 中华书局, 1956: 50-50.

[6] Gadd J. Unnel housing of pigs in Livestock Environment IV // Fourth International Symposium. Michigan: American Society of Agricultural Enginneers, 1993: 1040-1048.

[7] Tiquia S M, Tam N F Y, Hodgkiss I J. Effects of turning frequency on composting of spent pig-manure sawdust litter. Bioresource Technology, 1997, 62(1/2): 37-42.

[8] Kaufmann R, Heller W, Bieri M. Nutrient balance in the biobed system for fattening pigs. Agrarforschung, 1997, 4(1): 25-28.

[9] Connor M L. Update on alternative housing systems for pigs. Manitoba Swine Seminar Proceedings, 1995, (8): 93-96.

[10] Margeta V, Kralik G, Hanžek D, Margeta P. Deep-litter pigkeeping-Croatian perspectives. Acta Agraria Kaposvariensis, 2010, 14(2): 209-213.

[11] Knecht D, Popiołek M, Zaleśny G. Does meatiness of pigs depend on the level of gastro-intestinal parasites infection? Preventive Veterinary Medicine, 2011, 99(2/4): 234-239.

[12] 刘波, 蓝江林, 唐建阳, 史怀. 微生物发酵床菜猪大栏养殖猪舍结构设计. 福建农业学报, 2014, 29(5): 505-509.

[13] 刘波, 郑雪芳, 朱昌雄, 蓝江林, 林营志, 林斌, 叶耀辉. 脂肪酸生物标记法研究零排放猪舍基质垫层微生物群落多样性. 生态学报, 2008, 28(11): 5488-5498.

[14] 郑雪芳, 刘波, 林营志, 蓝江林, 刘丹莹. 利用磷脂脂肪酸生物标记分析猪舍基质垫层微生物亚群落的分化. 环境科学学报, 2009, 29(11): 2306-2317.

[15] 张学峰, 周贤文, 陈群, 魏炳栋, 姜海龙. 不同深度垫料对养猪土著微生物发酵床稳定期微生物菌群的影响. 中国兽医学报, 2013, 33(9): 1458-1462.

[16] 王迪. 猪用生物发酵床垫料中微生物群落多样性变化及芽孢杆菌分离与鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.

[17] 林莉莉, 姜雪, 冯聪, 范亮, 王际辉, 张彧. 发酵床养猪猪舍环境与猪体表微生物分布状况的研究. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19530-19532.

[18] 张庆宁, 胡明, 朱荣生, 任相全, 武英, 王怀忠, 刘玉庆, 王述柏. 生态养猪模式中发酵床优势细菌的微生物学性质及其应用研究. 山东农业科学, 2009, (4): 99-105.

chinaXiv:201711.00057v1

ChinaXiv合作期刊

[19] 刘让, 陈少平, 张鲁安, 苏贵成, 李岩. 生态养猪发酵益生菌的分离鉴定及体外抑菌试验研究. 国外畜牧学: 猪与禽, 2010, 30(2): 62-64.

[20] 郑雪芳, 刘波, 蓝江林, 苏明星, 卢舒娴, 朱昌雄. 微生物发酵床对猪舍大肠杆菌病原生物防治作用的研究. 中国农业科学, 2011, 44(22): 4728-4739.

[21] 毕小艳. 猪用发酵床垫料中微生物动态变化及对猪免疫力的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011.

[22] 卢舒娴. 养猪发酵床垫料微生物群落动态及其对猪细菌病原生防作用的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.

[23] 张金龙. 猪发酵床养殖中芽孢杆菌菌株的筛选、鉴定及产蛋白酶条件的优化[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.

[24] Liu B, Liu G H, Hu G P, Chen M C. *Bacillus mesonae* sp. nov., isolated from the root of *Mesona chinensis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64(10): 3346-3352.

[25] Kim O S, Cho Y J, Lee K, Yoon S H, Kim M, Na H, Park S C, Jeon Y S, Lee J H, Yi H, Won S, Chun J. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA Gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62(3): 716-721.

[26] Tindall B J, Rosselló-Móra R, Busse H J, Ludwig W, Kämpfer P. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60(1): 249-266.

[27] Barbosa J, Caetano T, Mendo S. Class I and class II lanthipeptides produced by *Bacillus* spp. Journal of Natural Products, 2015, 78(11): 2850-2866.

[28] Manhar A K, Bashir Y, Saikia D, Nath D, Gupta K, Konwar B K, Kumar R, Namsa N D, Mandal M. Cellulolytic potential of probiotic *Bacillus subtilis* AMS6 isolated from traditional fermented soybean (Churpi): an in-vitro study with regards to application as an animal feed additive. Microbiological Research, 2016, 186-187: 62-70.

[29] Lopetuso L R, Scaldaferri F, Franceschi F, Gasbarrini A. *Bacillus clausii* and gut homeostasis: state of the art and future perspectives. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology, 2016, 10(8): 943-948.

[30] Maeda K, Hanajima D, Toyoda S, Yoshida N, Morioka R, Osada T. Microbiology of nitrogen cycle in animal manure compost. Microbial Biotechnology, 2011, 4(6): 700-709.

[31] Kuroda K, Waki M, Yasuda T, Fukumoto Y, Tanaka A, Nakasaki K. Utilization of *Bacillus* sp. strain TAT105 as a biological additive to reduce ammonia emissions during composting of swine feces. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2015, 79(10): 1702-1711.

[32] Islas-Espinoza M, Reid B J, Wexler M, Bond P L. Soil bacterial consortia and previous exposure enhance the biodegradation of sulfonamides from pig manure. Microbial Ecology, 2012, 64(1): 140-151.

[33] Gutarowska B, Matusiak K, Borowski S, Rajkowska A, Brycki B. Removal of odorous compounds from poultry manure by microorganisms on perlite-bentonite carrier. Journal of Environmental Management, 2014, 141: 70-76.

[34] Hanajima D, Haruta S, Hori T, Ishii M, Haga K, Igarashi Y. Bacterial community dynamics during reduction of odorous compounds in aerated pig manure slurry. Journal of Applied Microbiology, 2009, 106(1): 118-129.

[35] Yi J, Wu H Y, Wu J, Deng C Y, Zheng R, Chao Z. Molecular phylogenetic diversity of *Bacillus* community and its temporal-spatial distribution during the swine manure of composting. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 93(1): 411-421.

[36] Guo Y, Zhang J L, Yan Y F, Wu J, Zhu N W, Deng C Y. Molecular phylogenetic diversity and spatial distribution of bacterial communities in cooling stage during swine manure composting. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2015, 28(6): 888-895.

[37] Li R, Li L Z, Huang R, Sun Y F, Mei X L, Shen B, Shen Q R. Variations of culturable thermophilic microbe numbers and bacterial communities during the thermophilic phase of composting. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2014, 30(6): 1737-1746.

[38] Guo Y, Zhang J L, Deng C Y, Zhu N W. Spatial heterogeneity of bacteria: evidence from hot composts by culture-independent analysis. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2012, 25(7): 1045-1054.

[39] He Y M, Xie K Z, Xu P Z, Huang X, Gu W J, Zhang F B, Tang S H. Evolution of microbial community diversity and enzymatic activity during composting. Research in Microbiology, 2013, 164(2): 189-198.

[40] 薛超, 黄启为, 凌宁, 高雪莲, 曹云, 赵青云, 何欣, 沈其荣. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通量研究方法. 土壤学报, 2011, 48(3): 612-618.

[41] 邹春娇, 齐明芳, 马建, 武春成, 李天来. Biolog-ECO 解析黄瓜连作营养基质中微生物群落结构多样性特征. 中国农业科学, 2016, 49(5): 942-951.

[42] 叶少文, 车建美, 刘波, 王阶平, 陈倩倩, 刘国红, 陈峥, 唐建阳. 微生物发酵床垫料酶活性变化研究. 福建农业学报, 2016, 31(1): 52-56.

[43] 尹红梅, 吴迎奔, 张德元, 王震, 陈薇, 贺月林. 发酵床中耐高温地衣芽胞的分离鉴定及产酶分析. 家畜生态学报, 2012, 33(6): 97-102.

[44] 孙碧玉, 邵继海, 秦普丰, 汤浩, 黄红丽. 养猪发酵床中净水芽胞杆菌的分离及其固体发酵研究. 环境工程, 2014, 32(11): 60-63.

chinaXiv:201711.00057v1
http://www.ecologica.cn

ChinaXiv合作期刊

[45] Mc Carthy G, Lawlor P G, Coffey L, Nolan T, Gutierrez M, Gardiner G E. An assessment of pathogen removal during composting of the separated solid fraction of pig manure. Bioresource Technology, 2011, 102(19): 9059-9067.

[46] Vijay Kumar E, Srijana M, Kiran Kumar K, Harikrishna N, Reddy G. A novel serine alkaline protease from *Bacillus altitudinis* GVC11 and its application as a dehairing agent. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2011, 34(4): 403-409.

[47] Madhuri A, Nagaraju B, Harikrishna N, Reddy G. Production of alkaline protease by *Bacillus altitudinis* GVC11 using castor husk in solid-state fermentation. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 167(5): 1199-1207.

[48] Mukherjee S, Das P, Sivapathasekaran C, Sen R. Antimicrobial biosurfactants from marine *Bacillus circulans*: extracellular synthesis and purification. Letters in Applied Microbiology, 2009, 48(3): 281-288.

[49] Subba Rao C, Madhavendra S S, Sreenivas Rao R, Hobbs P J, Prakasham R S. Studies on improving the immobilized bead reusability and alkaline protease production by isolated immobilized *Bacillus circulans* (MTCC 6811) using overall evaluation criteria. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2008, 150(1): 65-83.

[50] 刘波, 刘国红, 林乃铨. 基于脂肪酸生物标记芽胞杆菌属种类的系统发育. 微生物学报, 2014, 54(2): 139-158.

[51] 蓝江林, 宋泽琼, 刘波, 史怀, 黄素芳, 林娟. 微生物发酵床不同腐熟程度垫料主要理化特性. 福建农业学报, 2013, 28(11): 1132-1136.

[52] Seiler H, Schmidt V, Wenning M, Scherer S. *Bacillus kochii* sp. nov., isolated from foods and a pharmaceuticals manufacturing site. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62(5): 1092-1097.

http://www.ecologica.cn

chinaXiv:201711.00057v1